

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

MEDICAL AND LIFE SCIENCES

DOI: 10.12731/wsd-2017-4-77-95

УДК 617.51+617.53]-07:577.216

МОЛЕКУЛЫ МИКРОРНК КАК ИНСТРУМЕНТ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГОЛОВЫ И ШЕИ, СОПРОВОЖДАЮЩИХСЯ НЕОПЛАСТИЧЕСКИМ РОСТОМ

*Аникин К.П., Рукиа Т.Г., Бакшеева С.Л., Казанцева Т.В.,
Палкина Н.В., Маругина Т.Л.*

Взаимодействие между участками ДНК, кодирующими белки, и микроРНК до сих пор является одним из самым удивительных и неизведанных открытий в молекулярной онкологии.

В течение времени результаты многочисленных исследований меняли отношение к молекулам микроРНК: то, что раньше называли «генетическим мусором», оказалось наиважнейшим регулятором опухолевой трансформации, прогрессии и последующей инвазии в интактные ткани.

МикроРНК представляют собой короткие транскрипционные последовательности, которые не участвуют в непосредственной продукции протеинов или небольших аминокислотных цепей, однако, действуют, осуществляя контроль синтеза белка, тем самым принимая участие в жизнедеятельности клетки на транскрипционном, посттранскрипционном и(или) трансляционном уровне.

В данной статье мы рассматриваем микроРНК как биомаркер, позволяющий производить диагностику неоплазий челюстно-лицевой области на самом раннем этапе их развития.

Ключевые слова: микроРНК; плоскоклеточный рак полости рта; биосинтез микроРНК; онкоген; опухолевый супрессор.

MICRORNA MOLECULES AS A TOOL OF DIAGNOSTICS OF HEAD AND NECK CANCER

*Anikin K.P., Ruksha T.G., Baksheeva S.L., Kazantseva T.V.,
Palkina N.V., Marugina T.L.*

The interplay between abnormalities in genes coding for proteins and microRNAs (miRNAs) has been among the most exiting yet unexpected discoveries in oncology over the last decade. The complexity of this network has redefined cancer research as these molecules produced from what was once considered “genomic trash”, have shown to be crucial for cancer initiation, progression, and dissemination.

Naturally occurring miRNAs are very short transcripts that never produce a protein or amino acid chain, but act by regulating protein expression during cellular processes such as growth, development and differentiation at the transcriptional, post-transcriptional and/or translational level. In this review article we present miRNAs as ubiquitous players involved in all cancer hallmarks.

We also describe the most used methods to detect their expression, which have revealed through gene expression studies the identity of hundreds of miRNAs dysregulated in cancer cells or tumor microenvironment cells.

Keywords: *MicroRNA; squamous cell carcinoma of the oral cavity; biosynthesis of microRNA; oncogene; tumor suppressor.*

Механизм биосинтеза микроРНК

Основная догма молекулярной биологии, объясняющая реализацию генетической информации в любой биологической системе, сводится к следующему утверждению: «ДНК создает РНК, которая кодирует белок [1]. Однако, в исследованиях последних лет отмечается, что существуют такие последовательности ДНК, которые ответственны за синтез РНК-транскриптов, не участвующих в кодировании белковых молекул. Такие транскрипционные последовательности были названы «некодирующие РНК» и отнесены к так называемой «темной материи» человеческого генома [2, 3].

МикроРНК – это класс малых некодирующих РНК, длиной от 19 до 24 нуклеотидов, регулирующих экспрессию генов посредством различных механизмов, полностью не исследованных и по сей день [5].

На первом (внутриядерном) этапе биосинтеза микроРНК происходит следующая цепь событий: сегменты ДНК, представляющие собой участки гена, кодирующего микроРНК, подвергаются транскрипции посредством ДНК-зависимой РНК-полимеразы 1 или 2 типа [6, 7]. В результате этого процесса образуется первичный транскрипт (премикроРНК) длиной в несколько сотен или тысяч нуклеотидов. В рамках второго (цитоплазматического) этапа премикроРНК экспортируется в цитоплазму, где, в результате серии каталитических превращений достигает своего созревания, и, впоследствии соединяясь с белками, образует «РНК-индуцированный молчащий комплекс», после активации которого происходит связывание микроРНК с матричной РНК (мРНК) в 3'-нетранслируемой области (Рис. 1). Таким образом, молекулы микроРНК являются понижающим регулятором процесса трансляции, а следовательно, и синтеза белка. Это становится возможным в следствие ингибирования способности рибосомы «прочитать» мРНК. В рамках альтернативного действия микроРНК может также увеличить деградацию мРНК. Уровень комплементарности между микроРНК и мРНК-мишенью может определить механизм, с помощью которого блокируется синтез белка. Идеальная или почти идеальная комплементарность молекул была обнаружена при индукции процесса полного разрушения мРНК путем расщепления, а частичная комплементарность была обнаружена при репрессировании трансляции матричной РНК путем блокирования доступа мРНК к рибосоме [9, 10]. В связи с тем, что каждая молекула микроРНК содержит сотни мРНК мишеней, очень объемный сегмент генома, кодирующий белок, находится под их контролем. Таким образом, регуляция экспрессии генов посредством молекул микроРНК представляет особый интерес, так как они могут быть вовлечены в любой тип патофизиологического процесса. [16, 19, 20].

Понимание механизмов действия микроРНК значительно расширилось в последние несколько лет. Это связано с открытиями, демонстрирующими неожиданные регулирующие способности этих молекул, такие как связывание с промотором или прямое взаимодействие с другими некодирующими РНК. МикроРНК может повторно перемещаться в ядро – например, человеческая микроРНК-29b была обнаружена преимущественно в ядре [12]. Это говорит о том, что, несмотря на их малый размер, микроРНК содержат специфические нуклеотидные последовательности, которые позволяют им осуществлять контроль даже на нуклеарном уровне. В этом случае, точкой приложения для регулирующего

действия молекул микроРНК является ДНК. Например, человеческий микроРНК-373 связывается с промотором гена Е-кадгерина, тем самым вызывая его экспрессию [7, 13].

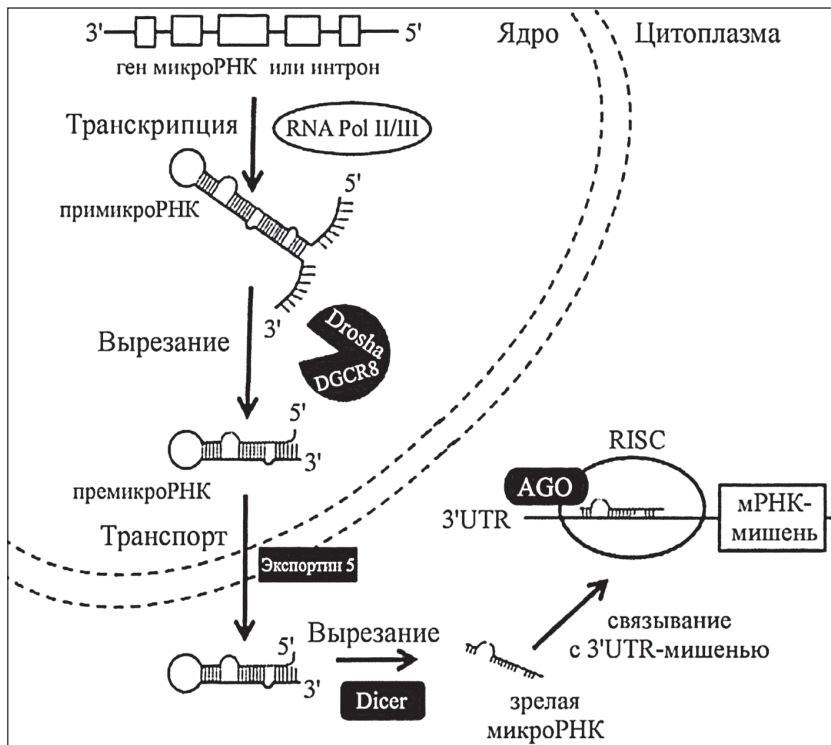


Рис. 1. Биосинтез микроРНК [6]

В последние несколько лет были получены данные, говорящие о способности микроРНК быть положительным регулятором синтеза белка. Так было показано взаимодействие микроРНК-369-3р с нуклеотидами 3' нетранслируемой области мРНК, кодирующей фактор некроза опухолей альфа (ФНО-альфа), приводящее к увеличению синтеза данного провоспалительного цитокина [8]. Таким образом, микроРНК обладают способностью контролировать судьбу кодирующих белок генов путем присоединения посредством спаривания оснований комплементарной последовательности мРНК.

МикроРНК также может оказывать влияние в качестве секретируемых молекул, которые вызывают ответ, опосредованный рецептором в другой клетке или ткани. Они могут перемещаться во внеклеточную среду в составе экзосом (везикул, образованных почкованием плазматической мембраны), что позволяет им действовать подобно гормонам.

Изменения молекул микроРНК были идентифицированы при многих заболеваниях человека, таких как аутоиммунные, сердечно-сосудистая патология, шизофрения. Однако наивысший уровень дисрегуляции микроРНК демонстрируют при онкологических заболеваниях. Было обнаружено, что уровень экспрессии микроРНК различен в нормальной и опухолевой ткани, включая доброкачественные и злокачественные опухоли, такие как лейкозы, лимфомы, рак легких, рак молочной железы, колоректальный рак, плоскоклеточный рак кожи и слизистой оболочки полости рта, папиллярная карцинома щитовидной железы, глиобластома и другие опухоли головного мозга, гепатоцеллюлярная карцинома, опухоли поджелудочной железы, рак шейки матки, рак предстательной железы, почек и мочевого пузыря, рак или аденомы гипофиза [15, 16, 17, 18].

МикроРНК как онкоген и опухолевый супрессор

Молекулярные исследования последнего десятилетия доказали онкогенную роль микроРНК в развитии опухолей. Увеличение экспрессии микроРНК-21 приводит к изменению фенотипа В-лимфоцитов, провоцируя неопластическую трансформацию по типу В-клеточного лимфолейкоза. [19] При инактивации микроРНК-21 происходит полный регресс опухолевого роста в течение нескольких дней посредством индукции апоптоза.

При помощи молекулярного микрочипирования было установлено значительное увеличение уровня экспрессии микроРНК-21 в исследуемых образцах плоскоклеточного рака полости рта по сравнению с тканями интактной слизистой оболочки [20]. Антагонистическое действие микроРНК по отношению к опухолевому росту демонстрируется следующим примером: увеличение экспрессии микроРНК-138 коррелирует с уменьшающимся риском метастазирования плоскоклеточного рака полости рта регулируя RhoC and ROCK2 Rho GTPases [21].

МикроРНК как биомаркер неопластической трансформации

Идентификация молекул микроРНК может стать одним из информативных маркеров, позволяющих определить риск трансформации различных форм лейкоплакии в плоскоклеточный рак на самой ранней стадии. При

сравнении профилей микроРНК, выделенных из тканей лейкоплакии с начавшейся опухолевой трансформацией и без нее было определено 109 молекул микроРНК, экспрессированных исключительно в образцах опухолевой ткани [22]. Кроме того, увеличение синтеза микроРНК-21, микроРНК-181b и микроРНК-345 значимо коррелировало с индукцией неопластической трансформации в тканях лейкоплакии [23, 24]. Таким образом становится очевидным диагностическое значение молекул микроРНК, позволяющих служить идентификатором ранней неопластической трансформации различных форм лейкоплакии и предсказывать ее озлокачествление.

Биомаркеры неопластической трансформации представляют собой молекулярный продукт, образовавшийся в ходе поэтапного процесса развития опухолей человека.

МикроРНК способны оказывать воздействие на эти молекулы, и признание применимости этих взаимодействий будет все в большей степени влиять на разработку новых терапевтических альтернатив для онкологических пациентов [25, 26]. Далее представлены некоторые характерные примеры микроРНК, которые действуют как регуляторы биологии опухолей. Выделяют следующие механизмы неопластического роста, на которые тем или иным образом оказывается регулирующее воздействие молекулами микроРНК.

1. *Автономность сигналов роста*

Активация онкогена RAS является распространенным событием, которое позволяет опухолевым клеткам избежать зависимости от фактора роста и стать «зависимым от онкогена». Было доказано, что все три гена RAS (K-, N- и H-) непосредственно модулируются опухолевым супрессором микроРНК let-7 на посттранскрипционном уровне [57]. Кроме того, микроРНК let-7 также оказывает влияние на синтез плейотропного фактора транскрипции (HMGA2) путем связывания с комплементарным фрагментом мРНК и снижая его выработку. Характерная понижающая регуляция микроРНК let-7 на синтез выше описанных молекул имеет онкопротекторное значение для клетки. Таким образом снижение экспрессии микроРНК let-7 приводит к повышенной экспрессии онкогенов RAS и реализации их каскадных эффектов [2]. Очевидно, что оба этих механизма имеют существенное значение для опухолеобразования и развития рака.

2. *Отсутствие чувствительности к анти-ростовым сигналам*

E2F представляет собой группу генов, которые кодируют семейство транскрипционных факторов, которые жестко регулируют

этапы клеточного цикла и синтеза ДНК. Три из них, E2F1, E2F2 и E2F3a, известны как «активаторы клеточного цикла», способствующие неконтролируемому росту клеток. Было продемонстрировано, что несколько микроРНК обладают потенциалом для модуляции трансляции мРНК этих факторов транскрипции. Например, было показано, что микроРНК-20a, микроРНК-17-5p, микроРНК-93 и микроРНК-106b отрицательно регулируют E2F1-3 [1]. Вероятно, что подавление синтеза этих микроРНК при прогрессии различных типов рака может способствовать развитию пролиферативной транскрипционной сети, способствующей опухолевому росту. Таким образом, воссоздание высоких уровней экспрессии этих микроРНК (в E2Fs-зависимых опухолях) может служить будущей терапевтической альтернативой. Некоторые из этих miRNAs являются частью положительных или отрицательных механизмов обратной связи, и поэтому конечный результат модулирования их уровней все еще остается открытым.

Наконец, в отдельных исследованиях был обнаружен фактор транскрипции FOXO1 (супрессор опухолей, который контролирует пролиферацию и регулирует апоптоз) в классических случаях лимфомы Ходжкина (cHL). В cHL-клеточных линиях уровни FOXO1 оказались репрессированными тремя регулируемыми микроРНК: miR-96, miR-182 и miR-183 [29]. Эта репрессия значимо увеличивала пролиферацию и в то же время ингибировала апоптоз *in vitro*

3. Избегание апоптоза

Апоптоз – физиологический клеточный механизм, который приводит к удалению нежелательных клеток. Повышенный уровень miR-25 был идентифицирован в клеточных линиях холангиокарциномы [30].

Рак, связанный с геномной областью 1p36 (часто теряется или перепорядочивается во многих типах лейкозов), содержит ключевой супрессор опухолей miR-34a. В нейробластоме потеря miR-34a синергируется с онкогенной амплификацией MYCN. Кроме того, было показано, что miR-34a является отрицательным регулятором MYCN. Кроме того, известно, что miR-34a индуцирует остановку клеточного цикла и последующий каспаза-зависимый апоптоз путем подавления Антиапоптотический белок Bcl2 и индуктор транскрипции клеточного цикла E2F3/67.

4. *Безграничный репликативный потенциал*

Клеточное старение является физиологическим выходом из клеточного цикла в ответ на различные стрессовые стимулы. Одним из ключевых молекул, осуществляющих регуляцию этого процесса, является теломераза, – фермент, который предотвращает потерю важной ДНК из концов хромосом. В исследованиях обнаружено, что изменение уровня определенных микроРНК связано с преждевременным старением. Так например, повышенный уровень miR-29 и miR-30 говорит о подавлении репликации онкогена B-Myb, ингибирующего клеточный синтез ДНК.

Более того, miR-373 и miR-372 были идентифицированы в качестве молекул, способных к пролиферации и опухолеобразованию зародышевых клеточных линий человека, несущих онкогенный RAS и p53 дикого типа (функциональный супрессор опухолей). Эти микроРНК нейтрализовали ингибирование p53-зависимой циклин-зависимой киназы (CDK), возможно, путем прямого ингибирования экспрессии опухолевого супрессора LATS2. Это доказательство наиболее определенно подразумевает, что оба микроРНК являются онкогенными, особенно в развитии опухолей зародышевых клеток человека.

5. *Ангиогенез*

Опухолевые клетки активируют «ангиогенный переключатель», производя большое количество проангиогенных факторов, которые способствуют неоваскуляризации. Наиболее важный фактор – фактор роста эндотелия сосудов (VEGF) – высоко выражен в большинстве опухолей как солидных, так и гематологических, и было доказано, что он индуцируется гипоксией. Было обнаружено, что во время прогрессирования опухоли гипоксия способствует модуляции экспрессии микроРНК, частично путем прямой транскрипционной активации специфических микроРНК (таких как miR-26, miR-107 и miR-210), вызванных гипоксически-индуцируемым фактором-1 (HIF-1) [31]. Эти микроРНК выполняют двойную функцию: с одной стороны они участвуют в ангиогенезе, а с другой – потенцируют способность клеток участвовать в анти-апоптозных механизмах для поддержания выживания. Например, miR-27a сдерживает ген цинкового пальца ZBTB10, отрицательный регулятор транскрипционных факторов специфичности белка (SP), и посредством этой репрессии он индуцирует SP-зависимую

транскрипцию генов, связанных с выживанием и ангиогенезом (т.е. сурвивин, VEGF, VEGFR) [32].

Кроме того, miR-210 посредством прямой модуляции рецептора тирозинкиназы-рецептора Ephrin A представляет собой компонент схемы, контролирующей хемотаксис эндотелиальных клеток и тубулогенез [41, 51]. Кроме того, недавно была связана с ангиогенезом подавление miR-18a. Известно, что miR-18a ингибирует фосфорилирование двух субстратов пути mTOR. Это приводит к инактивации пути и последующему снижению факторов, стимулирующих образование кровеносных сосудов, таких как HIF-1 α и VEGF [34].

6. *Опухолевая инвазия и метастазирование*

Процесс метастазирования начинается с приобретения инвазивных свойств, которые позволяют клеткам отделяться от первичной опухоли, проникать в кровеносную или лимфатическую сосудистую систему и распространяться в отдаленные органы. Было показано, что повышение уровня miR-10b способствует инвазии и метастазированию путем нацеливания HOXD10 – гомеобоксного транскрипционного фактора, который способствует или поддерживает дифференцированный фенотип в эпителиальных клетках [35].

7. *Перепрограммирование энергетического обмена*

Злокачественные клетки адаптируют метаболические пути для удовлетворения своих энергетических потребностей [36]. Глютамин и глюкоза являются двумя основными питательными веществами, которые питают клеточный метаболизм, и пути, использующие эти питательные вещества, часто изменяются при раке [28, 29]. Показано, что метаболизм глютамина (глутаминолиз) модулируется онкогеном MYC с помощью miR-23a / b при раке щитовидной железы, а также в лимфоме В-клеток [37]. Кроме того, он также может модулироваться с помощью опосредованной p65 активации, которая подавляет количество miR-23a84 [39]. Наконец, было доказано, что гликолиз модулируется серией различных микроРНК, включая miR-378-star 85 и miR-143 [4, 12].

8. *Уклонение от иммунного надзора*

Сигнальный преобразователь и активатор транскрипции 3 (STAT3) регулирует ключевой путь, опосредующий иммуносупрессию в микроокружении опухоли [40]. В последнее время стали открываться роли микроРНК в опосредуемой опухолью иммуносупрессии. Было

обнаружено, что miR-124 сильно подавлен во всех классах и патологических типах глиом по сравнению с нормальной мозговой тканью, и он был идентифицирован как важный модулятор передачи сигналов STAT3 микроРНК [35, 36]. Повышенная регуляция miR-124 в стволовых клетках рака глиомы (gCSC), как было показано, ингибирует путь STAT3. Это приводило к инвертированной индукции регуляторных Т-клеток РЗ-блокады (Treg), а также к инверсии опосредуемой gCSC иммуносупрессии пролиферации Т-клеток [10]. Кроме того, системное лечение miR-124 с применением зрелой miRNA (внутриопухолевой или внутривенной инфекцией) продемонстрировало терапевтический эффект против глиомы в мышиных моделях глиобластомы [43, 44]. Полученные эффекты указывают, что действие miR-124 зависит от наличия опосредованного Т-клетками противоопухолевого иммунного ответа [45].

Генетические основы aberrантной экспрессии молекул микроРНК в опухолевых клетках

Современные представления о механизмах нарушения экспрессии молекул микроРНК в клетках опухоли являются всего лишь вершиной айсберга молекулярной онкологии. Однако известно, что есть специфические микроРНК из семейства микроРНК-34 и микроРНК-15/16, уровень экспрессии которых регулируется TP 53 [43, 44];

Аберрантная экспрессия микроРНК вызывает изменение уровня пре-микроРНК по сравнению с образцами здоровой ткани. Выделяют, по крайней мере, три механизма, которые могут действовать как независимо, так и синергично, обеспечивая снижение или избыточное амплифицирование участка гена, кодирующего микроРНК

- 1- Метилирование (присоединение метильных групп к участку ДНК, кодирующему микроРНК)
- 2- Модификация белков-гистонов, участвующих в суперупаковке ДНК [39].
- 3- Нарушение работы ферментных систем, осуществляющих процессинг микроРНК

Роль генеративных и соматических мутаций молекул микроРНК

Вариации в последовательностях нуклеотидов, расположенных в предшественнике или первичном транскрипте, кодирующем микроРНК, могут способствовать предрасположению и инициации рака [5]. Напри-

мер, были обнаружены некоторые генеративные и соматические мутации генов, кодирующих микроРНК у пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом. В первоначальном анализе вариаций последовательности в микроРНК сообщалось, что у двух пациентов с диагнозом «хронический лимфоцитарный лейкоз» происходило замещение нуклеотидов (цитозин на тимин), что ассоциировалось с более низкими уровнями зрелого микроРНК-16 (микроРНК-16 является опухолевым супрессором) [49]. Эта мутация оказала воздействие на SRp20 протеины, являющиеся консервативным семейством белков, участвующих в сплайсинге РНК, в том числе и в обработке первичного микроРНК-16 транскрипта. Это событие, предположительно, способствовало развитию хронического лимфоцитарного лейкоза [9, 53]. Подобные выводы, указывают на то, что некоторые пациенты с хроническим лимфоцитарным лейкозом могут иметь генетическую предрасположенность к этому типу рака.

МикроРНК и плоскоклеточный рак полости рта

МикроРНК в исследованиях плоскоклеточного рака языка. Wong et al. Проводили микрочипирование МикроРНК, изучая уровень экспрессии 156 МикроРНК в образцах плоскоклеточного рака языка, и сравнивали экспрессию данных молекул с экспрессией в интактных тканях. В результате группа исследователей идентифицировала 24 молекулы микроРНК, уровень которых был увеличен в образцах плоскоклеточного рака (miR-17-5p, miR-21, miR-30a-3p, miR-31, miR-34b, miR-34c, miR-104, miR-124a, miR-124b, miR-128a, miR-132, miR-134, miR-147, miR-154, miR-155, miR-181c, miR-184, miR-197, miR-198, miR-213, miR-325, miR-338 и miR-372), в то время как уровень экспрессии 13 микроРНК был уменьшен (miR-26b, miR-99a, miR-100, miR-107, miR-125b, miR-133a, miR-133b, miR-138, miR-139, miR-149, miR-194, miR-195 и miR-219) [46]. Число измененного уровня экспрессии микроРНК при плоскоклеточном раке языка может означать важность дисрегуляторной экспрессии этих специфических молекул при данном заболевании.

Анализ профилирования микроРНК на основе микрочипирования показал, что miR-21 часто сверхэкспрессируется в образцах плоскоклеточного рака языка по сравнению с соседней нормальной слизистой оболочкой, а высокая экспрессия miR-21 связана с плохим прогнозом за счет ингибирования апоптоза в опухолевых клетках [38]. Аналогичным образом, повышенная регуляция miR-24 [21, 22] и miR-184 [24] в образцах плоскоклеточного рака языка связана с повышенной пролиферацией

и ингибированным апоптозом [13]. Напротив, уменьшенная экспрессия miR-138 коррелирует с повышенным риском метастазов, возможно, путем регуляции RhoC и ROCK2 Rho GTPases [50]. Наше понимание функций этих микроРНК может помочь нам лучше понять их роль в развитии плоскоклеточного рака языка.

МикроРНК в исследованиях плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта. Идентификация специфических молекул микроРНК также позволяет определить риск злокачественной трансформации лейкоплакии слизистой полости рта, что является чрезвычайно полезным инструментом для раннего обнаружения плоскоклеточного рака полости рта. При сравнении профилей микроРНК в образцах лейкоплакии с прогрессией и без нее было обнаружено, что 109 микроРНК дифференцированы только в прогрессирующей лейкоплакии и инвазивном плоскоклеточном раке полости рта [14, 44]. Однако наиболее интересным было то, что повышенная экспрессия miR-21, miR-181b и miR-345 была связана с клинически более тяжелым течением лейкоплакии слизистой полости рта. [15] Таким образом можно утверждать, что данные микроРНК могут служить в качестве биомаркеров для раннего выявления прогрессирующих форм лейкоплакии, которые рискуют перейти в злокачественные поражения [3, 4, 27].

Рассматривая профили микроРНК в 18 клеточных линиях плоскоклеточного рака полости рта в сравнении с иммортализованной клеточной линией клеточного кератиноцита RT7, была проанализирована панель из 148 микроРНК [33]. В общей сложности 52 микроРНК (36%) были недостаточно выражены в линиях клеток плоскоклеточного рака полости рта по сравнению с контрольными клетками. Таким образом, взаимосвязь между экспрессией микроРНК и другими эпигенетическими механизмами может иметь чрезвычайно важное значение в процессе канцерогенеза.

Кроме того, была создана экспериментальная модель плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта, которая отвечает требованиям для проведения опытов по изучению возможностей биотерапии этих злокачественных опухолей.

Методика эксперимента заключается в следующем: шесть сирийских хомячков обрабатывали канцерогеном DMBA, а затем проводили микропипирование микроРНК для исследования профилей экспрессии микроРНК в процессе развития канцерогенеза. В то время как пять микроРНК (miR-21, miR-200b, miR-221, miR-338 и miR-762) были избыточно экспрессированы, 12 микроРНК (miR-16, miR-26a, miR-29a, miR-124a,

miR-125b, miR-126-5p, miR-143, miR-145, miR-148b, miR-155, miR-199a и miR-203) были подавлены из-за этого онкогенного стимула [24, 25]. Сверхэкспрессия miR-21 впоследствии была подтверждена в других исследованиях, и было предложено, что miR-21 снижает регуляцию экспрессии гена-супрессора опухоли PDCD4, что связано с метастазированием в региональные лимфатические узлы и инвазивным потенциалом плоскоклеточного рака слизистой оболочки полости рта [18].

Из вышесказанного следует, что молекулы микроРНК являются одним из важнейших регуляторов опухолевого роста в ряду из существующих инструментов эпигенетического контроля синтеза белка. Этим определяется направление развития стратегий таргетной персонифицированной терапии злокачественных опухолей головы и шеи.

Список литературы / References

1. Baba S., Hara A., Kato K., et al. Aberrant promoter hypermethylation of the CHFR gene in oralsquamous cell carcinomas. *Oncol Rep.* 2009; 22(5):1173–1179. [PubMed: 19787237] Lopez-Serra P, Esteller M. DNA methylation-associated silencing of tumor-suppressor microRNAs in cancer. *Oncogene.* 2012; 31(13):1609–1622. [PubMed: 21860412].
2. Bader A.G. miR-34 – a microRNA replacement therapy is headed to the clinic. *Front Genet.* 2012; 3:120. [PubMed: 22783274].
3. Barry G., Briggs J.A., Vanichkina D.P., Poth E.M. The long non-coding RNA Gomafu is acutely regulated in response to neuronal activation and involved in schizophrenia-associated alternative splicing. *Mol Psychiatry.* 2014; 19(4):486–94. [PubMed: 23628989].
4. Benes V., Castoldi M. Expression profiling of microRNA using real-time quantitative PCR, how to use it and what is available. *Methods.* 2010; 50(4):244–249. [PubMed: 20109550].
5. Cabianca D.S., Casa V., Bodega B., et al. A long ncRNA links copy number variation to a polycomb/trithorax epigenetic switch in FSHD muscular dystrophy. *Cell.* 2012; 149(4):819–831. [PubMed: 22541069].
6. Cervigne N.K., Reis P.P., Machado J., et al. Identification of a microRNA signature associated with progression of leukoplakia to oral carcinoma. *Hum Mol Genet.* 2009; 18(24):4818–4829. miRNA profiling study on oral premalignant lesions. This study classified 109 miRNAs that are highly expressed in progressive leukoplakia and invasive OSCC only. Therefore, it helped to discover markers that identify lesions at high risk for malignant transformation. [PubMed: 19776030].

7. Cheng H., Zhang L., Cogdell D.E., et al. Circulating plasma MiR-141 is a novel biomarker for metastatic colon cancer and predicts poor prognosis. *PLoS One*. 2011; 6(3):e17745. [PubMed: 21445232].
8. Dharap A., Nakka V.P., Vemuganti R. Effect of focal ischemia on long noncoding RNAs. *Stroke*. 2012; 43(10):2800–2802. [PubMed: 22949471].
9. Eichelser C., Flesch-Janys D., Chang-Claude J., Pantel K., Schwarzenbach H. Deregulated serum concentrations of circulating cell-free microRNAs miR-17, miR-34a, miR-155, and miR-373 in human breast cancer development and progression. *Clin Chem*. 2013; 59(10):1489–1496. [PubMed: 23748853].
10. Guay C., Jacovetti C., Nesca V., Motterle A., Tugay K., Regazzi R. Emerging roles of non-coding RNAs in pancreatic β -cell function and dysfunction. *Diabetes Obes Metab*. 2012; 14(Suppl 3): 12–21. [PubMed: 22928560].
11. Heneghan H.M., Miller N., Kerin M.J. MiRNAs as biomarkers and therapeutic targets in cancer. *Curr Opin Pharmacol*. 2010; 10(5):543–550. [PubMed: 20541466].
12. Huang Z., Huang D., Ni S., Peng Z., Sheng W., Du X. Plasma microRNAs are promising novel biomarkers for early detection of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2010; 127(1):118–126. [PubMed: 19876917].
13. Imamura K., Imamachi N., Akizuki G. Long noncoding RNA NEAT1-dependent SFPQ relocation from promoter region to paraspeckle mediates IL8 expression upon immune stimuli. *Mol Cell*. 2014; 53(3):393–406. [PubMed: 24507715].
14. Janssen H.L., Reesink H.W., Lawitz E.J., et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA. *N Engl J Med*. 2013; 368(18):1685–1694. [PubMed: 23534542].
15. Jakymiw A., Patel R.S., Deming N., et al. Overexpression of dicer as a result of reduced let-7 microRNA levels contributes to increased cell proliferation of oral cancer cells. *Genes Chromosomes Cancer*. 2010; 49(6):549–559. [PubMed: 20232482].
16. Jiang L., Liu X., Kolokythas A., et al. Downregulation of the Rho GTPase signaling pathway is involved in the microRNA-138-mediated inhibition of cell migration and invasion in tongue squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2010; 127(3):505–512. [PubMed: 20232393].
17. Jiang L., Liu X., Kolokythas A., et al. Downregulation of the Rho GTPase signaling pathway is involved in the microRNA-138-mediated inhibition of cell migration and invasion in tongue squamous cell carcinoma. *Int J Cancer*. 2010; 127(3):505–512. [PubMed: 20232393].
18. Kloosterman W.P., Wienholds E., De Bruijn E., Kauppinen S., Plasterk R.H. In situ detection of miRNAs in animal embryos using LNA-modified oligonucleotide probes. *Nat Methods*. 2006; 3(1):27–29. [PubMed: 16369549].

19. Li Y., Xu J., Chen H., et al. Comprehensive analysis of the functional microRNA-mRNA regulatory network identifies miRNA signatures associated with glioma malignant progression. *Nucleic Acids Res.* 2013; 41(22):e203. [PubMed: 24194606].
20. Lin Q., Chen T., Lin Q., et al. Serum miR-19a expression correlates with worse prognosis of patients with non-small cell lung cancer. *J Surg Oncol.* 2013; 107(7):767–771. [PubMed: 23609137].
21. Lindow M., Kauppinen S. Discovering the first microRNA-targeted drug. *J Cell Biol.* 2012; 199(3):407–412. [PubMed: 23109665].
22. Ling H., Fabbri M., Calin G.A. MicroRNAs and other non-coding RNAs as targets for anticancer drug development. *Nat Rev Drug Discov.* 2013; 12(11):847–865. [PubMed: 24172333].
23. Liu C.J., Kao S.Y., Tu H.F., Tsai M.M., Chang K.W., Lin S.C. Increase of microRNA miR-31 level in plasma could be a potential marker of oral cancer. *Oral Dis.* 2010; 16(4):360–364. [PubMed: 2023326].
24. Liu X., Wang A., Heidbreder C.E., et al. MicroRNA-24 targeting RNA-binding protein DND1 in tongue squamous cell carcinoma. *FEBS Lett.* 2010; 584(18):4115–4120. [PubMed: 20816961].
25. Lu Y.C., Chen Y.J., Wang H.M., et al. Oncogenic function and early detection potential of miRNA-10b in oral cancer as identified by microRNA profiling. *Cancer Prev Res (Phila).* 2012; 5(4):665–674. [PubMed: 22318752].
26. Mancuso M., Matassa D.S., Conte M., et al. H3K4 histone methylation in oral squamous cell carcinoma. *Acta Biochim Pol.* 2009; 56(3):405–410. [PubMed: 19753335].
27. Meng W., Ye Z., Cui R., et al. MicroRNA-31 predicts the presence of lymph node metastases and survival in patients with lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2013; 19(19):5423–5433. [PubMed: 23946296].
28. Ogata-Kawata H., Izumiya M., Kurioka D., et al. Circulating Exosomal microRNAs as Biomarkers of Colon Cancer. *PLoS One.* 2014; 9(4):e92921. [PubMed: 24705249].
29. Pentheroudakis G., Pavlidis N., Fountzilas G., et al. Novel microRNA-based assay demonstrates 92% agreement with diagnosis based on clinicopathologic and management data in a cohort of patients with carcinoma of unknown primary. *Mol Cancer.* 2013; 12:57. [PubMed: 23758919].
30. Perego P., Zuco V., Gatti L., Zunino F. Sensitization of tumor cells by targeting histone deacetylases. *Biochem Pharmacol.* 2012; 83(8):987–994. [PubMed: 22120677].
31. Pu X.X., Huang G.L., Guo H.Q., et al. Circulating miR-221 directly amplified from plasma is a potential diagnostic and prognostic marker of colorectal

- cancer and is correlated with p53 expression. *J Gastroenterol Hepatol*. 2010; 25(10):1674–1680. [PubMed: 20880178].
32. Reis P.P., Tomenson M., Cervigne N.K., et al. Programmed cell death 4 loss increases tumor cellinvasion and is regulated by miR-21 in oral squamous cell carcinoma. *Mol Cancer*. 2010; 9:238. [PubMed: 20831814].
33. Rodríguez M., Silva J., López-Alfonso A., et al. Different exosome cargo from plasma/bronchoalveolar lavage in non-small-cell lung cancer. *Genes Chromosomes Cancer*. 2014;10.1002/gcc.22181
34. Rosenwald S., Gilad S., Benjamin S., et al. Validation of a microRNA-based qRT-PCR test for accurate identification of tumor origin. *Mod Pathol*. 2010; 23(6):814–823. [PubMed: 20348879].
35. Scaria V., Pasha A. Long Non-Coding RNAs in Infection Biology. *Front Genet*. 2013; 3:308. [PubMed: 23316211].
36. Sempere L.F., Preis M., Yezefski T., et al. Fluorescence-based codetection with protein markers reveals distinct cellular compartments for altered MicroRNA expression in solid tumors. *Clin Cancer Res*. 2010; 16(16):4246–4255. [PubMed: 20682703].
37. Shaw R.J., Hall G.L., Woolgar J.A., et al. Quantitative methylation analysis of resection margins and lymph nodes in oral squamous cell carcinoma. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2007; 45(8):617–622. [PubMed: 17559992].
38. Tivnan A., Orr W.S., Gubala V., et al. Inhibition of neuroblastoma tumor growth by targeted delivery of microRNA-34a using anti-disialoganglioside GD2 coated nanoparticles. *PLoS One*. 2012; 7(5):e38129. [PubMed: 22662276].
39. Toiyama Y., Hur K., Tanaka K., et al. Serum miR-200c is a Novel Prognostic and Metastasis Predictive Biomarker in Patients With Colorectal Cancer. *Ann Surg*. 2014; 259(4):735–743. [PubMed: 23982750].
40. Tsujiura M., Komatsu S., Ichikawa D., et al. Circulating miR-18a in plasma contributes to cancer detection and monitoring in patients with gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2014;10.1007/s10120-014-0363-1
41. Wang J., Zhao J., Shi M., Ding Y., Sun H., Yuan F., Zou Z. Elevated expression of miR-210 predicts poor survival of cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014; 9(2):e89223. [PubMed: 24586608].
42. Wang B., Zhang Q. The expression and clinical significance of circulating microRNA-21 in serum of five solid tumors. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2012; 138(10):1659–1666. [PubMed: 22638884].
43. Westermann A.M., Schmidt D., Holdenrieder S., et al. Serum microRNAs as biomarkers in patients undergoing prostate biopsy: results from a prospective multi-center study. *Anticancer Res*. 2014; 34(2):665–669. [PubMed: 24510997].

44. Wiklund E.D., Gao S., Hulf T., et al. MicroRNA alterations and associated aberrant DNAmethylation patterns across multiple sample types in oral squamous cell carcinoma. PLoS ONE. 2011; 6(11):E27840. [PubMed: 22132151].
45. Wong T.S., Liu X.B., Wong B.Y., Ng R.W., Yuen A.P., Wei W.I. Mature miR-184 as potential oncogenic microRNA of squamous cell carcinoma of tongue. Clin Cancer Res. 2008; 14(9): 2588–2592. miRNA profiling study on tongue squamous cell carcinoma and normal tissues examining the expression level of 156 miRNAs. [PubMed: 18451220].
46. Wu Y., Crawford M., Mao Y., et al. Therapeutic Delivery of MicroRNA-29b by Cationic Lipoplexes for Lung Cancer. Mol Ther Nucleic Acids. 2013; 2:e84. [PubMed: 23591808].
47. Xu J., Wu C., Che X., et al. Circulating microRNAs, miR-21, miR-122, and miR-223, in patients with hepatocellular carcinoma or chronic hepatitis. Mol Carcinog. 2011; 50(2):136–142. [PubMed: 21229610].
48. Yamamoto D., Shima K., Matsuo K., et al. Ornithine decarboxylase antizyme induces hypomethylation of genome DNA and histone H3 lysine 9 dimethylation (H3K9me2) in human oral cancer cell line. PLoS ONE. 2010; 5(9):E12554. [PubMed: 20838441].
49. Yang C., Wang C., Chen X., et al. Identification of seven serum microRNAs from a genome-wide serum microRNA expression profile as potential noninvasive biomarkers for malignant astrocytomas. Int J Cancer. 2013; 132(1):116–127. [PubMed: 22674182].
50. Zhao G., Rodriguez B.L. Molecular targeting of liposomal nanoparticles to tumor microenvironment. Int J Nanomedicine. 2013; 8:61–71. [PubMed: 23293520].
51. Zheng H., Zhang L., Zhao Y., et al. Plasma miRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers for ovarian cancer. PLoS One. 2013; 8(11):e77853. [PubMed: 24223734].
52. Zhu C., Ren C., Han J., et al. A five-microRNA panel in plasma was identified as potential biomarker for early detection of gastric cancer. Br J Cancer. 2014; 110(9):2291–2299. [PubMed: 24595006].
53. Zion O., Burnstein I., Chajut A., et al. A Second-Generation MicroRNA-Based Assay for Diagnosing Tumor Tissue Origin. The Oncologist. 2012; 17:801–812. [PubMed: 22618571].

ДАнные ОБ АВТОРАХ

Аникин Кирилл Павлович, ассистент кафедры-клиники хирургической стоматологии и ЧЛХ

Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого

ул. Партизана Железняка, 1, г. Красноярск, 660022, Российская Федерация
wizzardz@mail.ru

Рукша Татьяна Геннадьевна, д.м.н., доцент, зав. кафедрой патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова
Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого
ул. Партизана Железняка, 1, г. Красноярск, 660022, Российская Федерация

Бакшеева Светлана Лукинична, д.м.н., доцент, зав. кафедрой-клиникой терапевтической стоматологии
Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого
ул. Партизана Железняка, 1, г. Красноярск, 660022, Российская Федерация

Казанцева Тамара Владимировна, к.м.н., доцент, доцент кафедры-клиники стоматологии ИПО
Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого
ул. Партизана Железняка, 1, г. Красноярск, 660022, Российская Федерация

Палкина Надежда Владимировна, к.м.н., ассистент кафедры-клиники патологической физиологии им. проф. В.В. Иванова
Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого
ул. Партизана Железняка, 1, г. Красноярск, 660022, Российская Федерация

Маругина Татьяна Леонидовна, к.м.н., доцент, доцент кафедры-клиники хирургической стоматологии и ЧЛХ
Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого
ул. Партизана Железняка, 1, г. Красноярск, 660022, Российская Федерация
tatiana.marugina@yandex.ru

DATA ABOUT THE AUTHORS

Anikin Kirill Pavlovich, Assistance

Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky

1, Partizan Zeleznyak Str., 660022, Krasnoyarsk, Russian Federation
wizzardz@mail.ru

Ruksha Tatyana Gennadiyevna, Professor, PhD

Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky

1, Partizan Zeleznyak Str., 660022, Krasnoyarsk, Russian Federation

Baksheeva Svetlana Lukinichna, Professor, PhD

Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky

1, Partizan Zeleznyak Str., 660022, Krasnoyarsk, Russian Federation

Kazantseva Tamara Vladimirovna, Associate Professor, PhD

Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky

1, Partizan Zeleznyak Str., 660022, Krasnoyarsk, Russian Federation

Palkina Nadezhda Vladimirovna, Associate Professor, PhD

Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky

1, Partizan Zeleznyak Str., 660022, Krasnoyarsk, Russian Federation

Marugina Tatyana Leonidovna, Associate Professor, PhD

Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky

1, Partizan Zeleznyak Str., 660022, Krasnoyarsk, Russian Federation
tatiana.marugina@yandex.ru